РЕЦЕНЗІЯ

ОФІЦІЙНОГО РЕЦЕНЗЕНТА

провідного наукового співробітника лабораторії біотехнології відтворення Інституту біології тварин НААН, кандидата біологічних наук,
Гевкана Івана Івановича
на дисертаційну роботу **Руминської Тетяни Миколаївни** на тему ***«Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин»*** на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія», що подана в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.008 Інституту біології тварин НААН

1. Актуальність теми дисертаційної роботи.

Запальна реакція організму є одним з важливих фізіологічних механізмів захисту організму від інфекційних факторів та важливою ланкою розвитку патологічних процесів залежно від активації тих чи інших медіаторів запалення. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), що використовують в лікуванні численних хвороб, можуть спричинювати низку побічних ефектів, основним з яких є ульцерогенна дія на слизові оболонки органів шлунково-кишкового тракту, зокрема НПЗП-гастропатія і розвиток виразкової хвороби 12-палої кишки та шлунку. Тривале вживання НПЗП може призвести до кишкового дисбіозу, наслідком якого є патофізіологічні впливи на гепатобіліарну, серцево-судинну, видільну та дихальну системи, а також нейропсихологічні порушення. Особливі типи кишкового дисбіозу асоціюються з розвитком колоректального раку. Враховуючи численні побічні ефекти існуючих нині НПЗП, активно ведеться розробка нових протизапальних засобів, позбавлених побічної дії.

Одним з перспективних підходів є пошук нових протизапальних молекул серед похідних 4-тіазолідинону, які володіють потужними протизапальними властивостями, а також виявляють активність проти бактерій та грибів. Крім того, ці сполуки мають структурну різноманітність та легко модифікуються, що робить їх перспективним класом молекул для розробки нових лікувальних препаратів. Незважаючи на наявні методи лікування, існує нагальна потреба в нових терапевтичних підходах, які ефективно борються із запаленням та знижують активність захворювань, мінімізуючи побічні ефекти.

Враховуючи вищесказане, тема дисертаційної роботи «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4- тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» є актуальною, а проведене дослідження значущим та

важливим з науково-теоретичної та практичної точки зору для розуміння функціонування мікробіому організму та розробки нових лікувальних препаратів.

2. Зв'язок теми роботи з науковими програмами, планами, темами

Дослідження, які входять до дисертаційної роботи були проведені згідно плану науково-дослідної роботи лабораторії обміну речовин С.З. Гжицького, Інституту біології тварин НААН відповідно до тематики ДР№0121U108826 «Дослідити вплив екологічних і кліматичних чинників на обмін речовин у тварин та розробити методи попередження метаболічних порушень» та було частково профінансоване Міністерством Охорони Здоров'я України — «Дослідження протимікробної та протизапальної активностей гетероциклічних та сполук природнього походження» [грант номер: 0123U100153].

3. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації; їх достовірність.

Дисертаційна робота виконана на високому методологічному рівні та є актуальним завершеним науковим дослідженням Руминською Т.М. використані сучасні методи дослідження, опрацьовано достатню кількість фактичного матеріалу, статистична обробка якого дозволила досягти мети, згідно з поставленими завданнями, дійти обґрунтованих висновків і розробити практичні рекомендації. Наукові положення та висновки дисертації, що базуються на фактичному матеріалі наукової роботи, є добре обґрунтованими та узагальненими. Вони відповідають поставленим меті й завданням дослідження та мають значну науково-теоретичну й практичну цінність.

4. Наукова новизна дослідження та отриманих результатів.

Дисертанткою уперше було досліджено та охарактеризовано біологічну активність нової сполуки 4-тіазолідінону Les-6490 (гібрид піразол-4-тіазолідінону). Виявлена антимікробна активність сполуки щодо стандартних та клінічних штамів патогенних бактерій і грибків, а саме виявлено активність проти *Staphylococcus aureus* та *Saccharomyces cerevisiae.*

Вперше новосинтезована сполука та НПЗП були вивчені на моделі запального процесу в щурів, індукованого ад'ювантом Фрейнда.

Проведено аналіз мікробного вмісту тонкої та товстої кишки мікробіологічними методами та співставленно з дослідженнями з використанням метагеномних послідовностей 16s рРНК. Виконано аналіз таксонів, альфа-різноманіття, бета-різноманіття, аналіз головних координат, аналіз головних компонентів, неметричне багатовимірне шкалювання, метод парних груп з арифметичним середнім, аналіз різниці спільнот, аналіз варіації між групами та метастатичний аналіз між групами.

Встановлено, що похідний 4-тіазолідинону значно впливає на зростання кількісного рівня протизапальних мікроорганізмів (*Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succivibionaceae*, *Coriobacteriales*) та відновлення еубіотичного складу кишкової мікробіоти, порушеної внаслідок індукованого запального процесу. Також було виявлено ймовірну антитрепонемну активність *in vivo*. Досліджувана сполука Les-6490 має потенційну пребіотичну активність з непрямим протизапальним ефектом; сполука Les-6490 впливає на склад мікробіомів кишкового каналу щурів подібно до нестероїдного протизапального препарату німесуліду. Вивчено вплив сполуки на показники запального процесу та маркери ліпідного, фосфорно-кальцієвого обміну та визначено маркери гепатотоксичності в умовах дії досліджуваної сполуки та препарату порівняння (німесуліду).

5. Практичне значення отриманих результатів.

Одержані результати наукового дослідження розширюють знання про мікроекологію кишкового каналу та інтестінальну мікробіоту завдяки результатам дослідження із застосуванням метагеномного аналізу. Виявлені властивості новосинтезованого похідного 4-тіазолідинону вказують на його потенційні властивості як протизапальної та мікроекологічно значущої сполуки з непрямою протизапальною дією і відкривають перспективи подальших досліджень з метою впровадження у фармацевтичну промисловість України та в практичну фармакотерапію.

Результати впроваджено в навчально-педагогічний процес кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

6. Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

Рукопис дисертаційної роботи Руминської Т.М. «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4- тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» перевірено на плагіат та встановлено, що дисертація відповідає вимогам академічної доброчесності та не містить ознак плагіату.

Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням автора. Спільно з науковими керівниками було обрано вибір напрямку роботи, сформульовані мета та завдання дослідження. Автор самостійно проаналізувала сучасну літературу з проблеми, що вивчається, здійснила інформаційний та патентний пошук. Дисертантка особисто написала всі розділи дисертаційної роботи, провела статистичний аналіз отриманих даних. Оформлення дисертаційної роботи, формулювання висновків, практичних рекомендацій виконане автором самостійно. Таким чином, ознак фальсифікації, плагіату та інших порушень норм академічної

доброчесності, наукової етики і моралі при аналізі дисертаційного дослідження не встановлено.

7. Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях.

Результати досліджень опубліковані в 11 наукових працях, з яких 4 статті у наукових фахових виданнях (2 у виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus (Q1 і Q4), 7 тез у матеріалах наукових конференцій, конгресу і форуму. Усі наукові праці повністю відображають результати й основні положення дисертації Руминської Т. М. Матеріали дисертаційної роботи оприлюднено й обговорено на багатьох міжнародних і всеукраїнських наукових конференціях.

8. Оцінка структури, змісту та форми дисертації.

Дисертація викладена українською мовою на 214 сторінках друкованого тексту. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, п'ятьох розділів власних досліджень, висновків, списку використаної літератури та 6 додатків. Робота ілюстрована 17 таблицями та 36 рисунками. Список використаних джерел містить 290 найменувань.

В **анотації** українською та англійською мовами авторка стисло виклала основні наукові положення та результати досліджень дисертаційної роботи.

У **вступі** розкрито актуальність теми, сформульовано мету й завдання, визначено об’єкт, предмет і методи дисертаційного дослідження, наведено новизну і практичне значення отриманих результатів, інформацію про особистий внесок здобувачки, результати апробації та публікації за темою дисертації, а також її обсяг і структуру.

Розділ 1 «Огляд літератури» містить 7 підрозділів у яких детально обґрунтовано необхідність виконання дослідження і надає обґрунтування обраному дизайну дисертаційної роботи. Авторка використала сучасні наукові публікації, більшість із яких англомовні і, в основному, опубліковані впродовж останніх 5 років. Розділ містить свіжі наукові дані щодо впливу нестероїдних протизапальних препаратів на мікробіоту організму, а також вплив мікробіоти на фізіологічні та патологічні процеси в організмі. Описано дослідження біологічних ефектів новосинтезованих тіазолідинонів та їх можливий вплив на мікроекологію.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» висвітлює характеристику та дизайн дослідження, ретельно описано методологічний принцип і використані методи й методики дослідження, статистичні методи обробки матеріалу. Зауважень до розділу немає.

Розділи 3-7 містять результати власних досліджень, чітко структуровані та завершуються коротким висновком, в яких викладено основні положення для легшого розуміння вагомості виконаного дослідження.

Розділ 3 «Мікробіологічні дослідження» містить дані про антимікробну дію похідних 4-тіазолідинонів». Досліджено вплив сполуки лідера, похідного

4- тіазолідинону (Les-6490), на утворення бактерійних біоплівок, а також вивчено дію сполуки Les-6490 та препарату (німесуліду) на мікрофлору кишківника щурів в умовах індукованого запалення. У розділі наведено хімічну формулу німесуліду, хоча вона вже була описана у розділі 2 (матеріали та методи).

Розділ 4. «Гематологічні та біохімічні параметри крові щурів. Токсичність сполуки» складається з 3 підрозділів.

У цьому розділі дисертантка описує дослідження сполуки Les-6490 на токсичність та встановлює що, новосинтезована сполука відноситься до 4 класу токсичності і може бути використана у експериментальній роботі.

Авторкою викладено результати впливу досліджуваної сполуки та препарату порівняння на протеїновий, ліпідний та мінеральний обміни в умовах без запалення та індукованим запальним процесом. Описано зміни гематологічних параметрів крові у щурів за дії досліджуваних речовин.

Результати даного розділу внесено в якості основних положень дисертаційної роботу у перший і третій висновки

Розділ 5. «Дослідження розвитку запального процесу індкуваного ад'ювантом Фрейнда». У даному розділі викладено результати спостереження дії сполуки Les-6490 та німесуліду в умовах запалення, яке було викликане ад'ювантом Фрейнда. Було встановлено, що новосинтезована сполука викликала сповільнення розвитку та інтенсивності проявів запального процесу. Зауважень до даного розділу немає.

Розділ 6. «Метагеномний аналіз» складається з двох підрозділів. Підрозділ 6.1 присвячений аналізі складу мікробіомів кишкового каналу, експериментальних тварин. Описано результати відносної кількісті таксонів у біоматеріалі окремих групах. Проведено аналіз альфа- та бета-різноманіття, аналіз кривої біорізноманіття та головних компонентів з кластерним перетворенням. У підрозділі 6.2 проведено аналіз міжгрупових варіацій із застосуванням t -тестового аналізу та проведено MetaStat – аналіз таксонів із значними внутрішньо груповими варіаціями.

Даний розділ проілюстровано сучасними графіками та діаграмами. За допомогою ґрунтовних статистичних розрахунків були констатовані достовірні результати. Рекомендовано таблиці 6.5-6.7 перенести у додатки.

Розділ 7 «Порівняльна дія німесуліду та похідної 4-тіазолідинону сполуки Les-6490 на парієтальну мікробіоту кишки *in vivo* при індукованому запальному процесі». Виконуючи дане дослідження дисертантка з'ясувала, як може змінюватися мікробіота тонкої кишки за дії новосинтезованої сполуки та німесуліду та дійшла висновку, що сполука Les-6490 потенціює ріст *Helicobacter*, але пригнічує *Stenotrophomonas* і в цілому сприяє розвитку більшої видової різноманітності мікробіому кишки.

У останньому **8 розділі «Аналіз і узагальнення результатів досліджень»** міститься узагальнена деталізація та обговорення основних положень

дисертаційної роботи, наукової новизни і отриманих результатів, що викладено на 16 сторінках дисертаційної роботи.

Робота завершується **висновками**, які відображають основні наукові положення та отриманні результати дослідження. Висновки логічні, сформульовані чітко, відповідають меті та завданням.

Більшість використаних у дисертаційній роботі літературних джерел є сучасними, що підкреслюють актуальність проблеми дисертації.

9. Зауваження до змісту та оформлення дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні та заслуговує на позитивну оцінку. При ознайомленні з дисертаційною роботою принципових зауважень до її оформлення та змісту не виникло.

До несуттєвих зауважень можна віднести наявність поодиноких лексичних та стилістичних помилок, які не впливають на загальне позитивне сприйняття дисертації. слід зауважити:

- У тексті зустрічаються повторення назви групи тварин з розшифруванням застосованої речовини,
- дизайн дослідження рекомендовано перекласти українською мовою;
- на сторінці 74 некоректно сформульовано кількість тварин у досліді;
- у таблиці 3.1 можна було б відокремити МІК грибків окремим стовбцем або окремою таблицею;.
- на сторінці 92 пропущено дієслово «одержані результати»;
- на сторінці 94вжито слово «дорівнював», доцільніше писати «становив»;
- на сторінці 98 не конкретизовано висновок про вплив сполук на рівень лужної фосфатази;
- при описі показники мінерального обміну термін «нормалізуючий ефект» доцільно замінити на вираз підвищення рівня неорганічних фосфатів;
- дисертантка у розділі 7 не дає опису характеристик гелікобактерій, рекомендовано вказати видову характеристику;
- на сторінці 131 авторка допустила помилку в назві групи;
- на сторінці 133 є повтор речення;
- у розділі 8 не обговорено результату впливу сполуки на активність лужної фосфатази та ліпідний обмін.
- не конкретизовано висновок про одержані результати дії Les-6490 на мікробіом щурів з рекомендацією де можна застосовувати дану сполуку.

В процесі рецензування дисертаційної роботи виникли наступні запитання:

1. Як ви можете пояснити, що при застосуванні сполуки Les-6490 спостерігається зниження рівня альбуміну у щурів. На ваш погляд йде зниження синтезу альбуміну печінкою і відповідно з певною токсичністю препарату, чи внаслідок негативного впливу на нирки йде втрата його з сечею.

1. Як ви можете пояснити, що при застосуванні сполуки Les-6490 спостерігається зниження рівня альбуміну у щурів. На ваш погляд йде зниження синтезу альбуміну печінкою і відповідно з певною токсичністю препарату, чи внаслідок негативного впливу на нирки йде втрата його з сечею.
2. Як ви можете пояснити гіполіпідемічний вплив досліджуваної сполуки – зниження тригліцеридів та холестеролу? Чи це слід розцінювати як негативну дію на організм , зокрема на печінку?
3. Як ви вважаєте, чи зниження кількості лактобактерій з одночасним збільшенням біфідумбактерій може призвести до дисбалансом кишкової мікрофлори?
4. У дослідженні встановлено підвищення рівня гелікобактерій, не ідентифікованого виду під впливом сполуки Les-6490. Як відомо *Helicobacter pylori* може викликати дисбактеріоз і призводити до виразкової хвороб шлунку та карциногенезу. Які саме види гелікобактер підвищувалися у ваших дослідженнях?

10. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Руминської Тетяни Миколаївни «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичним значенням одержаних досліджень та висновків відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44, а її авторка, Руминська Тетяна Миколаївна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія».

Рецензент:
провідний науковий співробітник
лабораторії біотехнології відтворення
Інституту біології тварин НААН,
кандидат біологічних наук Іван ГЕВКАН

Підпис канд. біол. наук. Гевкана І.І. засвідчую
Вчений секретар Інституту біології
тварин НААН, к.с.-г.н. Оксана СМОЛЯНІНОВА